



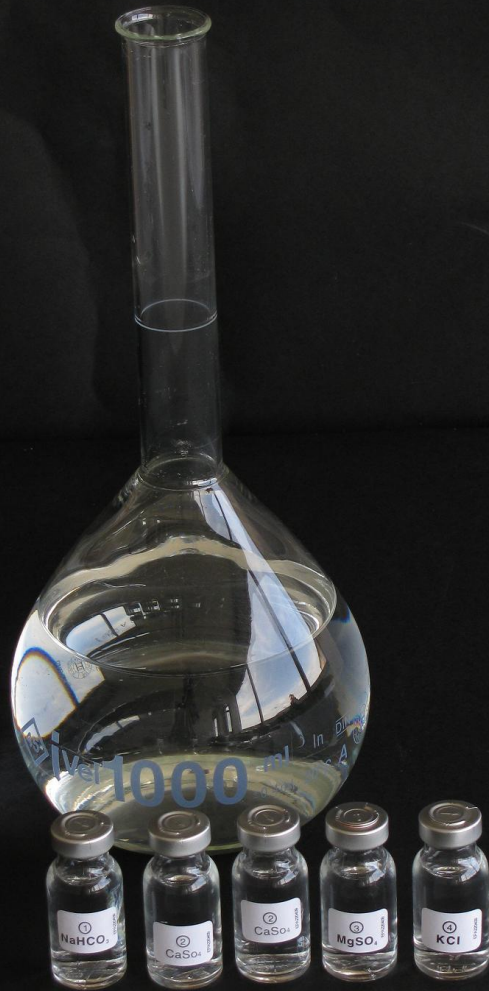
OSTRACODTOXKIT F

Procedura testu

1

PRZYGOTOWANIE STANDARDOWEJ POŻYWKI

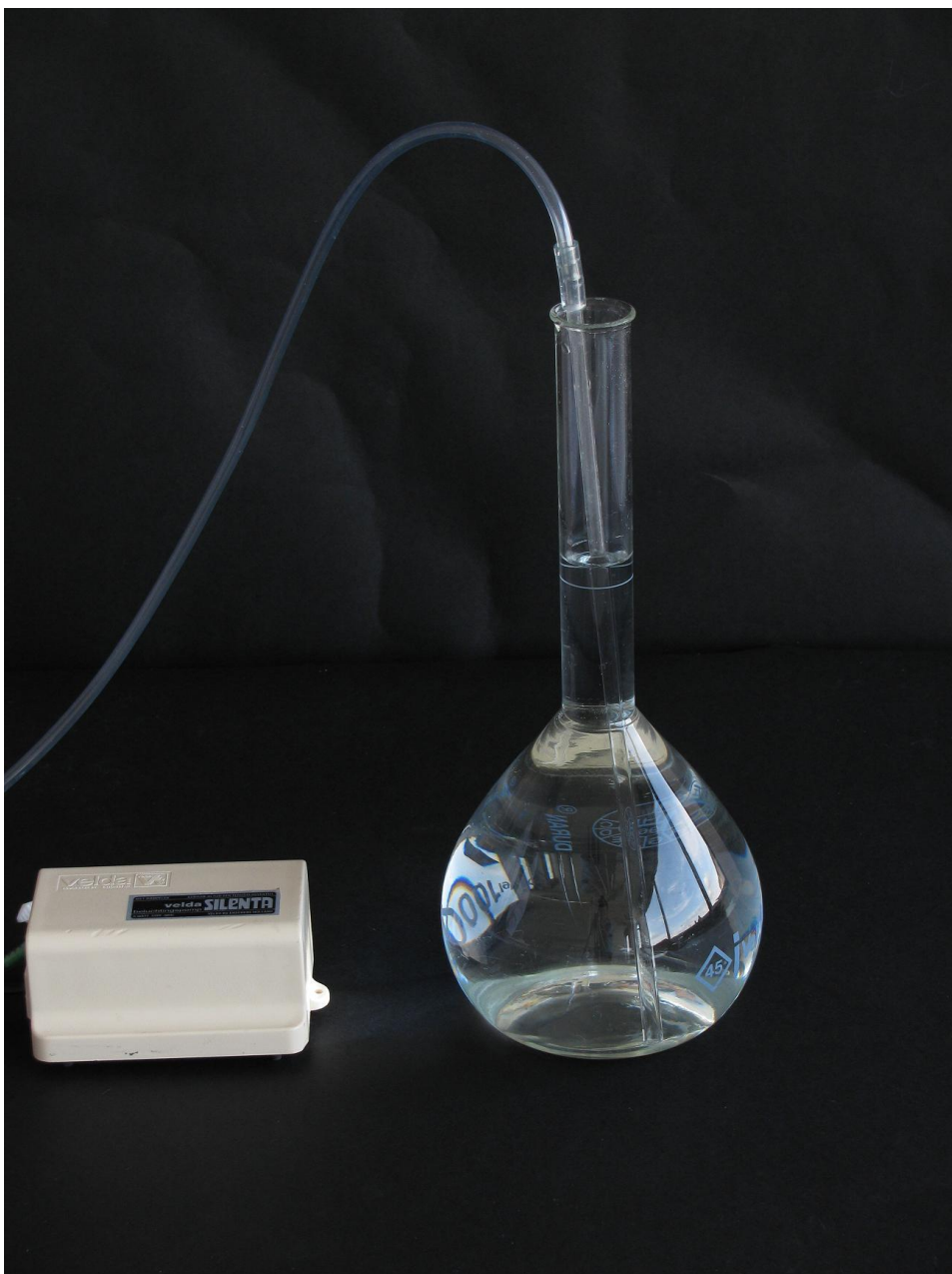
- KOLBKA MIAROWA (1 litr)
- FIOŁKI Z ROZTWORAMI
SKONCENTROWANYCH SOLI
- DESTYLOWANA
(lub dejonizowana) WODA





2

PRZELAĆ ZAWARTOŚĆ 5 FIOLEK
ZE SKONCENTROWANYMI
ROZTWORAMI SOLI
DO \pm 800 ML WODY DESTYLOWANEJ,
W KOLBCE MIAROWEJ 1 LITR



3

- NAPEŁNIĆ KOLBKĘ DO LINII ZNAKOWEJ
1 LITR
- NAPOWIETRZAĆ PRZEZ
CO NAJMNIEJ 15 MINUT



4

WYLĘG ORGANIZMÓW Z CYST

WYLAĆ ZAWARTOŚĆ JEDNEJ FIOŁKI
Z CYSTAMI NA PŁYTKĘ PETRI'EGO



5

ABY UPEWNIĆ SIĘ, ŻE WYSZYSTKIE
CYSTY ZOSTAŁY PRZENIESIONE,
WYPŁUKAĆ FIOŁKĘ DWUKROTNIE,
UŻYWAJĄC 1 ML STANDARDOWEJ
POŻYWKI

6



INKUBACJA CYST

INKUBOWAĆ PŁYTKĘ PETRI'EGO
PRZEZ 48 GODZIN W 25 °C,
W CIĄGŁYM OŚWIETLENIU
MIN. 3000 - 4000 LUX



7

**WSTĘPNE KARMIENIE
ORGANIZMÓW TESTOWYCH**

JEDNĄ FIOŁKĘ ZE
SPIRULINĄ
NAPEŁNIĆ
STANDARDOWĄ POŻYWKĄ

8



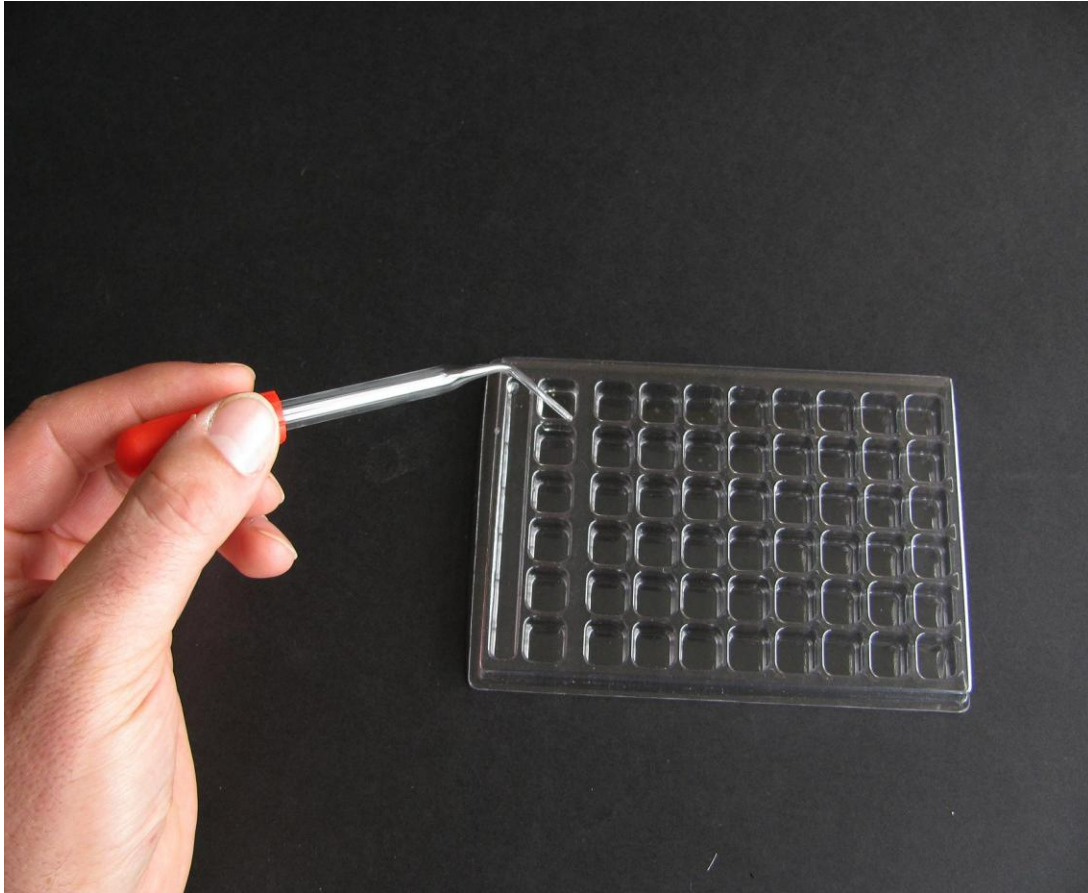
- WSTRZĄSNAĆ FIOKĘ Z ZAWIESINĄ SPIRULINY
- PRZELAĆ ZAWARTOŚĆ NA PŁYTKĘ PETRI'EGO ZAWIERAJĄCĄ WYLĘGNIĘTE ORGANIZMY I ZAMIESZAĆ PŁYTKĄ DELIKATNIE
- UMOŻLIWIĆ KARMIENIE ORGANIZMÓW PRZEZ 4 GODZINY



9

POMIAR DŁUGOŚCI MŁODYCH ORGANIZMÓW

SZKLANĄ MIKROPIPETĄ
POBRAĆ 10 ORGANIZMÓW
Z PŁYTKI DO WYLĘGU



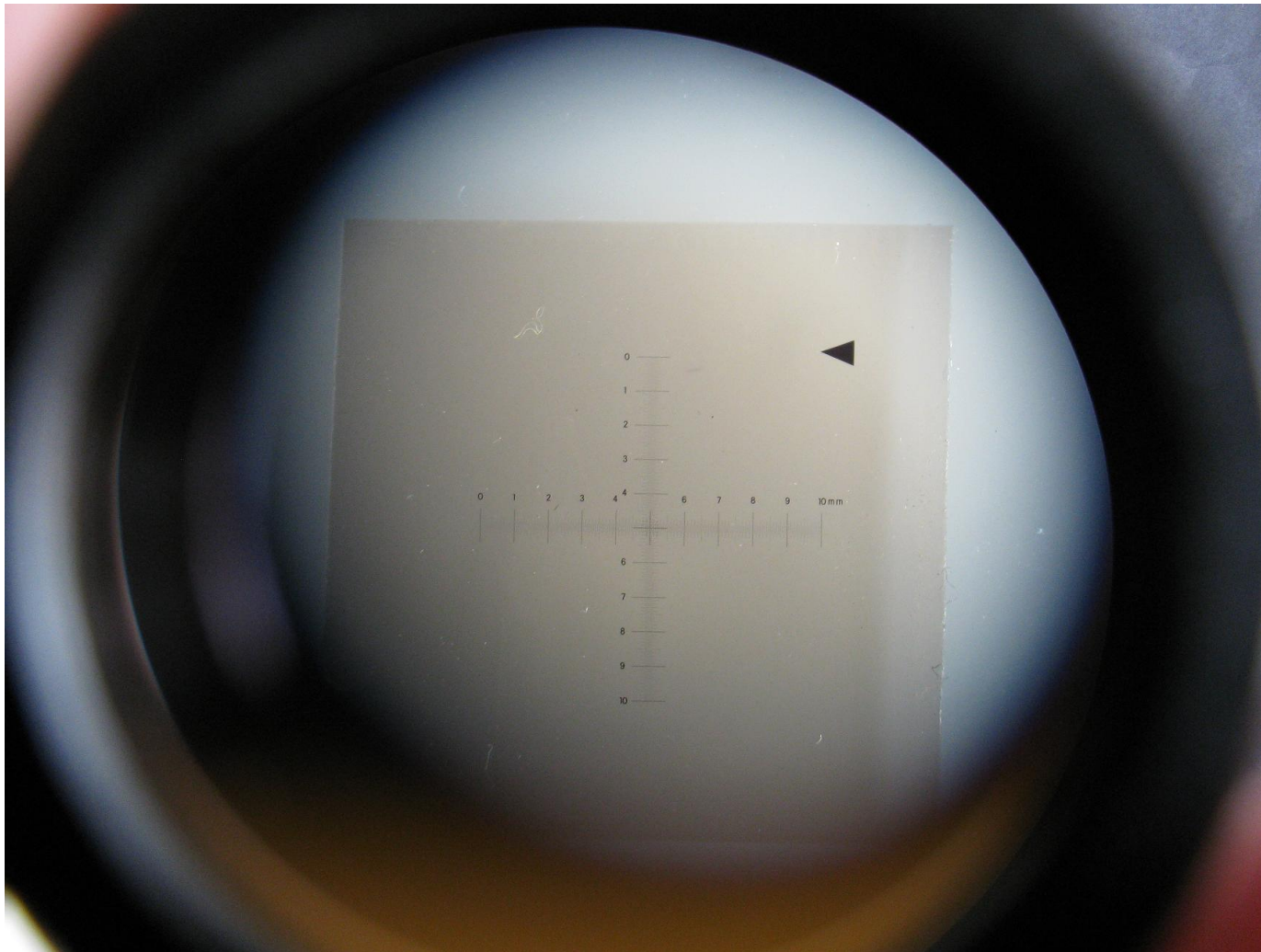
10

PRZENIEŚĆ ORGANIZMY
DO JEDNEGO DOŁKA
W WIELODOŁKOWEJ PŁYTCE
DO „POMIARU DŁUGOŚCI”



11

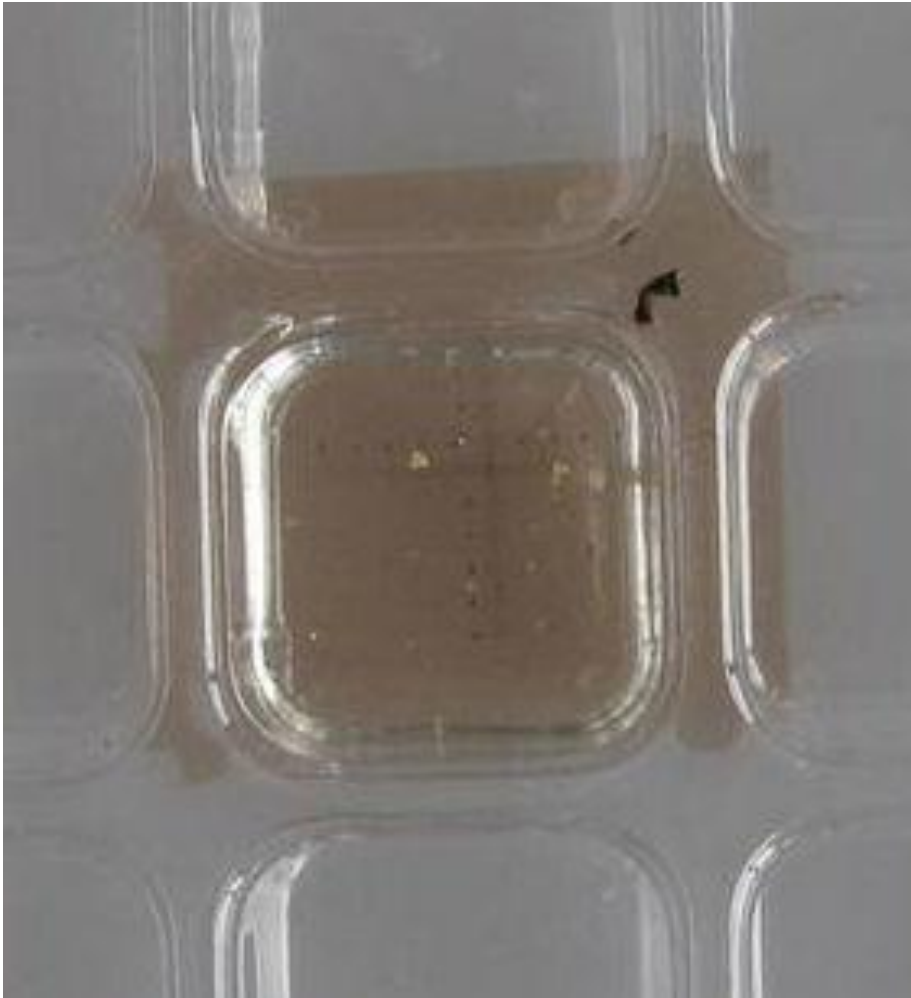
DODACĆ JEDNĄ KROPLĘ PŁYNU LUGOLA
DO DOŁKA ZAWIERAJĄCEGO ORGANIZMY
I ZACZEKAĆ, AŻ ZOSTANĄ ONE
CAŁKOWICIE UNIERUCHOMIONE



12

UMIEŚCIĆ PŁYTKĘ MIKROMETRYCZNĄ NA SZKLANYM STOLIKU
MIKROSKOPU, POŚRODKU POLA WIDZENIA

13



UMIEŚCIĆ WIELODOŁKOWĄ PŁYTKĘ
DO POMIARU DŁUGOŚCI
NA STOLIKU MIKROSKOPU
I ZMIERZYĆ DŁUGOŚĆ ORGANIZMÓW

*UWAGA: najmniejsza podziałka płytki
mikrometrycznej to 50 μm*

MŁODE ORGANIZMY MAJĄ DŁUGOŚĆ
OKOŁO 200 μm

14



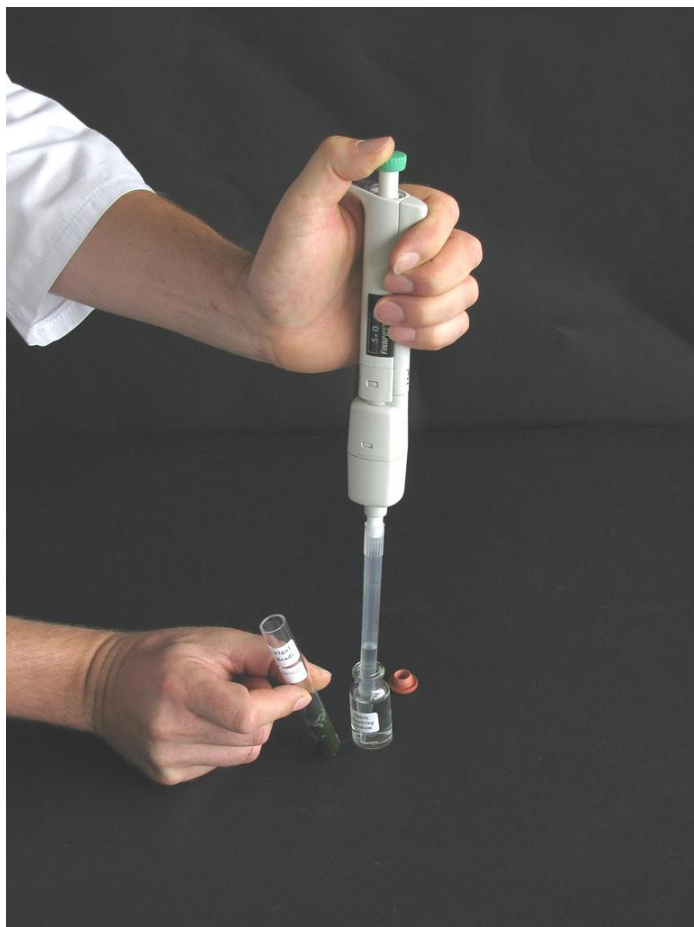
ZANOTOWAĆ DŁUGOŚĆ
ORGANIZMÓW
W KARCIE WYNIKU
W KOLUMNIE „DZIEŃ 0”



15

PRZYGOTOWANIE ZAWIESINY POKARMU Z GLONÓW

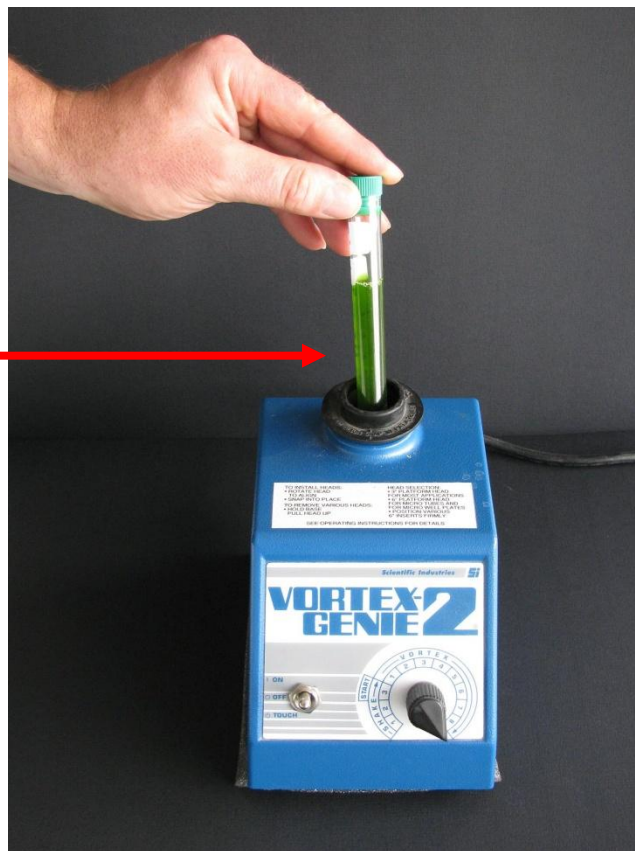
Z JEDNEJ PROBÓWKI ZE ZŁOŻAMI GLONÓW
WYLAĆ POŻYWKĘ DO PRZECHOWYWANIA,
UWAŻAJĄC, ABY NIE UTRACIĆ
JAKIEGOKOLWIEK ZŁOŻA
PRZY TEJ OPERACJI



16

UWALNIANIE GLONÓW

DODACĆ 7 ML ROZTWORU UWALNIAJĄCEGO GLONY DO PROBÓWKI ZE ZŁOŻAMI GLONÓW
I ZAMKNAĆ JĄ KORKIEM



17

WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ NA VORTEX-IE, AŻ ZŁOŻA ZOSTANĄ CAŁKOWICIE
ROZPUSZCZONE I GLONY ZOSTANĄ UWOLNIONE



WIROWAĆ PROBÓWKĘ PRZEZ 10 MINUT
PRZY 3000 OBR/MIN W STANDARDOWEJ
WIRÓWCE LABORATORYJNEJ



OSTROŻNIE WYLAĆ
SUPERNATANT Z PROBÓWKI

18



DODACĆ 10 ML WODY DESTYLOWANEJ
DO PROBÓWKI Z PELETKĄ GLONÓW

19

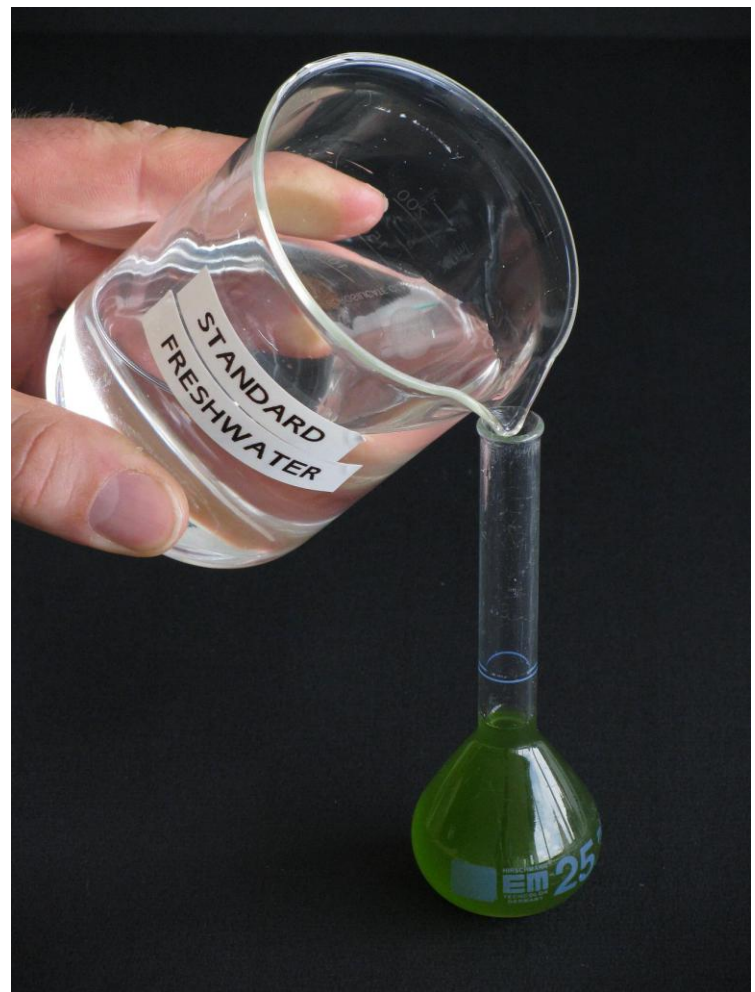


ZATKAĆ I WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ,
AŻ DO UZYSKANIA JEDNORODNEJ
ZAWIESINY GLONÓW



20

WIROWAĆ PROBÓWKĘ PONOWNIE 3000 OBR/MIN PRZEZ 10 MINUT
I WYLAĆ SUPERNATANT



21

- WLAĆ SKONCENTROWANĄ ZAWIESINĘ GLONÓW DO KOLBKI MIAROWEJ 25 ML
- DODACЬ STANDARDOWEJ POZYWKI DO LINII 25 ML
- ZATKAĆ KOLBKĘ I WSTRZĄSAĆ W CELU UZYSKANIA JEDNORODNEJ ZAWIESINY GLONÓW



22

DODAWANIE OSADU, POKARMU Z GLONÓW I ORGANIZMÓW NA PŁYKĘ TESTOWĄ

DODAĆ 2 ML STANDARDOWEJ POŻYWKI
DO KAŻDEGO DOŁKA W DWÓCH
PŁYTKACH TESTOWYCH (płytką dla osadu
referencyjnego i płytką dla osadu badanego)



23

PŁYTKA TESTOWA DLA OSADU REFERENCYJNEGO

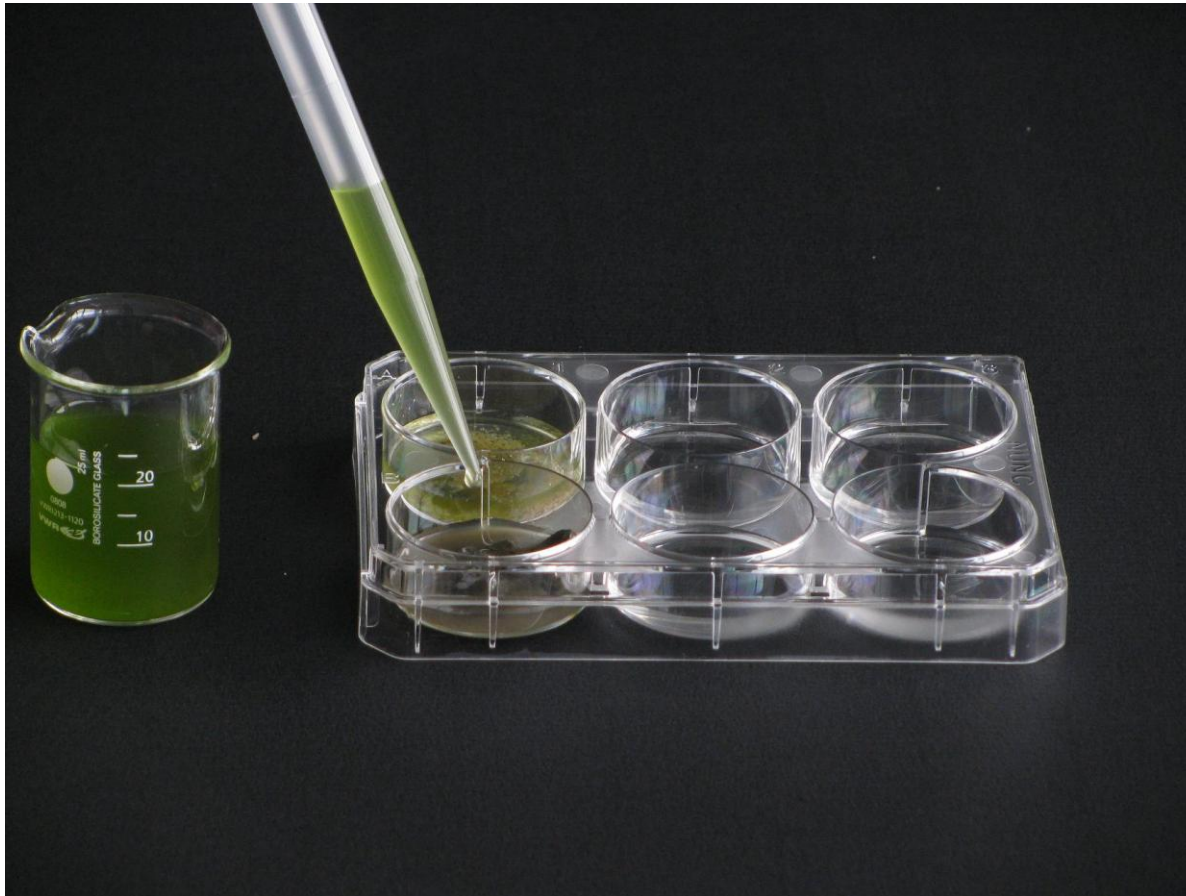
- NAPEŁNIĆ ŁYŻECZKĘ OSADEM REFERENCYJNYM I ZSUNĄĆ NADMIAR OSADU PLASTIKOWĄ SZPATUŁKĄ (pełna łyżeczka zawiera 500 μ l osadu)
- UMIEŚCIĆ ZAWARTOŚĆ 2 ŁYŻECZEK (= 1000 μ l) OSADU REFERENCYJNEGO W KAŻDYM DOŁKU PŁYTKI TESTOWEJ



24

PŁYTKA TESTOWA Z OSADEM BADANYM

- NAPEŁNIĆ ŁYŻECZKĘ OSADEM BADANYM I ZSUNĄĆ NADMIAR OSADU PLASTIKOWĄ SZPATUŁKĄ (pełna łyżeczka zawiera 500 μ l osadu)
- UMIEŚCIĆ ZAWARTOŚĆ 2 ŁYŻECZEK (= 1000 μ l) OSADU BADANEGO W KAŻDYM DOŁKU PŁYTKI TESTOWEJ (wierzchołkiem szpatułki zsunąć osad z łyżeczki)



25

- PRZELAĆ POKARM Z ZAWIESINY GLONÓW Z 25 ML KOLBKI DO KUBKA
- WSTRZĄSNĄĆ KUBKIEM ABY UZYSKAĆ JEDNORODNĄ ZAWIESINĘ GLONÓW
- PIPETĄ PODAĆ 2 ML ZAWIESINY GLONÓW DO KAŻDEGO DOŁKA W DWÓCH PŁYTKACH TESTOWYCH



26

NAPEŁNIĆ POKRYWKĘ PŁYTKI
PETRI'EGO DO WYLĘGU 10 ML
STANDARDOWEJ POŻYWKI



27

SZKLANĄ MIKROPIPETĄ PRZENIEŚĆ
MŁODE ORGANIZMY Z PŁYTKI DO
WYLĘGU NA POKRYWKĘ PŁYTKI



28

PRZENIEŚĆ 10 ORGANIZMÓW Z POKRYWKI PŁYTKI DO KAŻDEGO DOŁKA W DWÓCH PŁYTKACH
TESTOWYCH



29

INKUBACJA PŁYTEK TESTOWYCH

- PRZYKRYĆ OBIE PŁYTKI TESTOWE PASKAMI PARAFILMU I POKRYWKAMI
- INKUBOWAĆ PŁYTKI W 25 °C, W CIEMNOŚCI, PRZEZ 6 DNI



30

OBLICZANIE WYNIKU – 1. PRZENOSZENIE ORGANIZMÓW DO PŁYTKI PETRI'EGO

PIPETĄ Z SZEROKIM UJŚCIEM POBRAĆ PORCJĘ ZAWIESINY OSADU
Z JEDNEGO DOŁKA TESTOWEGO PŁYTKI I PRZENIEŚĆ JĄ NA MIKROSITKO



31

- DELIKATNIE PRZEPŁUKAĆ ZAWARTOŚĆ NA SITKU WODĄ KRANOWĄ W CELU WYPŁUKANIA BARDZO DROBNYCH CZĄSTEK OSADU
- POSTĘPOWAĆ DALEJ W TEN SPOSÓB PRZENOSZĄC KOLEJNE PORCJE ZAWIESINY OSADU NA MIKROSITKO I ZA KAŻDYM RAZEM PRZEPŁUKIWAĆ ZAWARTOŚĆ



32

- DODAĆ KILKA ML STANDARDOWEJ POŻYWKI DO DOŁKÓW
- WYMIESZAĆ WODĘ Z POZOSTAŁYM OSADEM I PRZENIEŚĆ ZAWARTOŚĆ NA MIKROSITKO W CELU PŁUKANIA
- POWTARZAĆ TĄ OPERACJĘ, AŻ CAŁY OSAD I WSZYTEKIE ORGANIZMY ZOSTANĄ PRZENIESIONE NA MIKROSITKO



33

- ODWRÓCIĆ MIKROSITKO DO GÓRY DNEM I WYPŁUKAĆ ZAWARTOŚĆ DO PŁYTKI PETRI'EGO, UŻYWAJĄC BUTELKI DO PŁUKANIA Z WODĄ KRANOWĄ
- POWTARZAĆ PRZENOSZENIE OSADU I PŁUKANIE DLA WSZYSTKICH DOŁKÓW Z OBU PŁYTEK



34

OBLICZANIE WYNIKU – 2. OBLICZANIE ŚMIERTELNOŚCI

**SZKLANĄ MIKROPIPETĄ POBRAĆ WSZYSTKIE ŻYWE ORGANIZMY Z PŁYTKI PETRI'EGO
I PRZENIEŚĆ JE DO JEDNEGO DOŁKA NA PŁYTCE DO POMIARU DŁUGOŚCI**

35



- ZLICZYĆ ŻYWE ORGANIZMY W DOŁKU
- ODJAĆ TĄ LICZBĘ OD 10
(t.j. od liczby wszystkich organizmów w dołku na początku testu)
- ZAPISAĆ WYNIK (t.j. liczbę organizmów, które nie przeżyły testu) NA KARCIE WYNIKU
- POWTARZAĆ TĄ OPERACJĘ DLA WSZYSTKICH DOŁKÓW W OBU PŁYTKACH TESTOWYCH
- OBLICZYĆ I ZAPISAĆ ŚREDNI % ŚMIERTELNOŚCI ORGANIZMÓW DLA WSZYSTKICH DOŁKÓW

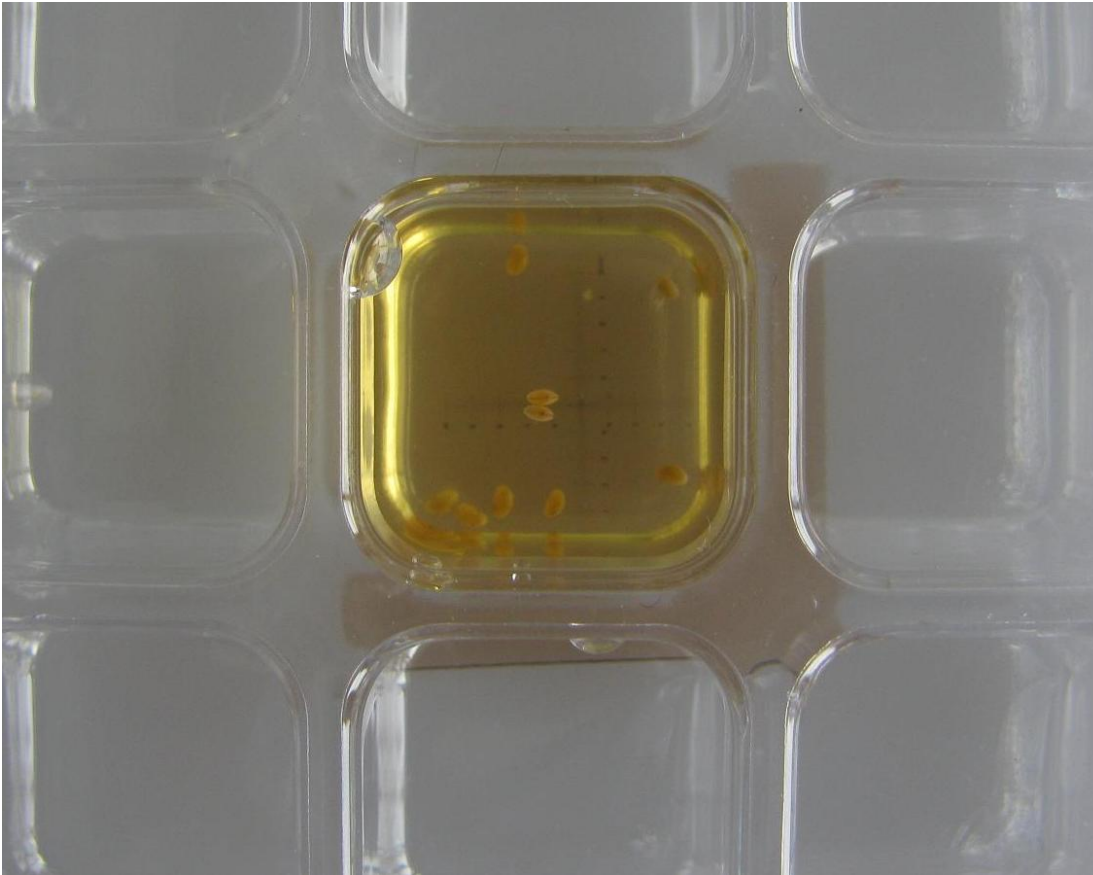
36

OBLICZANIE WYNIKU – 3. POMIAR DŁUGOŚCI

UWAGA: pomiar długości należy wykonywać tylko, jeśli % śmiertelności jest < 30%

- DODAĆ JEDNĄ KROPLĘ PŁYNU LUGOLA DO KAŻDEGO DOŁKA NA PŁYTCIE DO POMIARU DŁUGOŚCI, KTÓRY ZAWIERA ŻYWE ORGANIZMY Z DWÓCH PŁYTEK TESTOWYCH





37

- ODCZEKAĆ, AŻ ORGANIZMY ZOSTANĄ UNIERUCHOMIONE
- ZMIERZYĆ DŁUGOŚĆ KAŻDEGO ORGANIZMU WEDŁUG PROCEDURY WSKAZANEJ NA SLAJDACH 13 I 14
- ZAPISAĆ WYNIKI W ODPOWIEDNICH OKIENKACH W KARCIE WYNIKU

OSTRACODTOXKIT F

RESULTS SHEET

Mortality (D) and length (μ) of test organisms

Name of operator : TAMINGA RIK.....

Date of performance of test : 16/07/2002.....

Test sediment : SAMPLE 314A.....

LENGTH	DAY 0	REFERENCE SEDIMENT						TEST SEDIMENT					
		DAY 6						DAY 6					
		Replicate						Replicate					
Test organism		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	200	1100	1100	1100	1100	1000	1100	850	850	800	850	800	850
2	200	1100	1100	1000	1100	1000	1100	850	850	800	800	800	850
3	200	1100	1000	1000	1000	1000	1100	850	600	800	800	800	700
4	200	1100	1000	1000	1000	1000	1000	850	600	800	800	700	700
5	200	1000	1000	1000	950	1000	1000	850	600	650	750	700	600
6	200	1000	950	1000	950	950	900	650	600	650	700	700	600
7	200	1000	950	900	950	950	900	650	600	650	700	700	550
8	200	900	900	900	850	950	850	500	600	600	680	650	550
9	200	900	900	900	850	900	850	500	M	600	650	650	M
10	200	900	850	M	850	900	M	500	M	550	550	600	M
MORTALITY													
Number of dead ostracods per replicate		0	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	2
Mean % mortality per replicate													
Mean % mortality for all replicates													
Standard deviation of mean % mortality													
Variation coefficient of mean % mortality													
GROWTH INHIBITION													
Mean length of ostracods per replicate													
Mean length for all replicates													
Mean length increment per replicate	X												
Mean length increment for all replicates	X												
Mean growth inhibition (in μ) for all replicates	X												
Mean % growth inhibition in test sediment	X												

38

- WYKONAĆ OBLICZENIA WYNIKU
UŻYWAJĄC ODPOWIEDNIEGO PROGRAMU